Cryptogamie, Mycol. 1989, 10 (3): 243-256

LA PRÉMUNITION DE LA TOMATE CONTRE LA VERTICILLIOSE CAUSÉE PAR *VERTICILLIUM ALBO-ATRUM*, FORME A MICROSCLÉROTES. CONSÉQUENCES PHYSIOLOGIQUES DU PHÉNOMÈNE

A. REGRAGUI, H. LAHLOU et H. ZAID

Laboratoire de Botanique, Faculté des Sciences de Rabat,
Université Mohamed V, Maroc

RÉSUMÉ - La préinoculation des plants de tomate var. Marmande, avec des mutants non pathogènes du *Verticillium albo-atrum* (obtenus au laboratoire soit après vieillissement d'une culture de l'isolat p3, soit après plusieurs passages successifs sur une plante non hôte), a permis de les protéger contre l'agressivité de l'isolat p3. Toutefois, les agents prémunisants ne sont efficaces que s'ils sont appliqués 2 jours avant l'inoculation par la souche pathogène. Pour une bonne prémunition, la densité de l'inoculum doux doit être égale ou supérieure à 10^6 spores/ml. La protection semble être associée à un retard dans la colonisation de l'ensemble de la tige par l'agent pathogène. Les effets de la souche pathogène de *V. albo-atrum* sur la nutrition minérale et azotée des plantes infectées (altération dans l'accumulation des ions K^+ et Na^+, réduction de l'activité nitrate réductase) sont moins marqués chez les plantes prémunies. La préinoculation semble déclencher chez les plantes hôtes un système de défense(s) dont les conséquences sur le plan nutritionnel sont discutées.

ABSTRACT - The preinoculation of tomato plants var. Marmande with avirulent mutants of *V. albo-atrum* (obtained in laboratory either after the aging of the p3 isolate culture or after several successive trials on a non host plant) has allowed to protect them against the p3 aggression. However, the premunity factors are only efficient if applied 2 days before the challenger inoculation. For a good premunity, the mild inoculum density to be used must be equal or superior to 10^6 spores/ml. The protection seems to be associated with a delay in the spread of the total stem by the challenger. The effects of the pathogen strain of the *V. albo-atrum* on the mineral and nitrogenized nutrition of the infected plants (alteration in ions K^+ and Na^+ accumulation, reduction of nitrate reductase activity) have less impact on premunited plants. Preinoculation seems to activate in host plants a defense system for which the consequences on the nutrition domain have been discussed.

MOTS CLÉS : prémunition, *Verticillium*, composition minérale, activité nitrate réductase.

INTRODUCTION

De nombreuses recherches ont permis de montrer que les plantes peuvent être prémunies contre les parasites phytopathogènes (David, 1968; Kuc & al., 1975; Mas & Molot, 1977...). L'hôte sensible à l'agent pathogène est préinoculé avec un organisme peu ou pas pathogène, qui induit la résistance de l'hôte contre une infection ultérieure. La prémunition des plantes contre l'agressivité du *Verticillium* a donné des résultats positifs: retard dans l'apparition des symptômes de la maladie et réduction du nombre de plantes malades. Ainsi Schnathorst & Mathre (1966) ont pu protéger les plants de coton contre le *V. albo-atrum* par des conidies de souches avirulentes du même champignon. La préinoculation avec des conidies du *V. nigrescens* a protégé les plantes de menthe contre le *V. dahliae* (Mellouk & Horner, 1975). Matta & Garibaldi (1977) ont utilisé d'autres champignons pour protéger la tomate contre le *V. dahliae*. De son côté, Marois (1982) a pu protéger l'aubergine contre le même parasite par des isolats de *Talaromyces flavus*.

Lahlou (1983) a montré que dans la descendance par microconidies de cultures âgées de *V. albo-atrum*, forme à microsclérotes, il apparait parfois des lignées peu pathogènes vis-à-vis de la tomate Marmande. Elles pénètrent dans la plante et provoquent des symptômes peu prononcés. Selon le même auteur, ces lignées pourraient être utilisées pour tenter de prémunir les tomates contre l'attaque par des lignées plus pathogènes.

En fonction de ces données, nous avons tenté d'une part, d'optimiser les conditions de la prémunition de la tomate contre l'agressivité de la souche marocaine de *V. albo-atrum* et d'autre part, d'effectuer une première analyse des conséquences du phénomène sur la nutrition minérale et azotée des plantes inoculées, partant des observations faites par Guerrier & al. (1985), sur les perturbations nutritionnelles engendrées par la présence du *Verticillium* chez les plantes hôtes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Le parasite

Différents isolats appartenant à l'espèce *V. albo-atrum*, forme à microsclérotes, ont été utilisés:

- l'isolat p3 obtenu en 1978 à partir d'une tige de tomate atteinte de verticilliose au Maroc dans la région de Casablanca, produit des microsclérotes en grande quantité et se montre très agressif vis-à-vis de la tomate Marmande.

- des mutants peu ou pas pathogènes, issus de l'isolat p3 et obtenus soit après vieillissement d'une culture p3 pour le clone p1, soit après plusieurs passages successifs sur une plante non hôte (piment) pour les clones a3 et a4 devenus peu pathogènes vis-à-vis de la plante hôte d'origine (Douira & Lahlou, 1989).

Isolats et mutants sont entretenus en culture sur milieu P.D.A. Les cultures sont conduites en boîtes de Petri, à l'obscurité et une température de 25 ± 1°C.

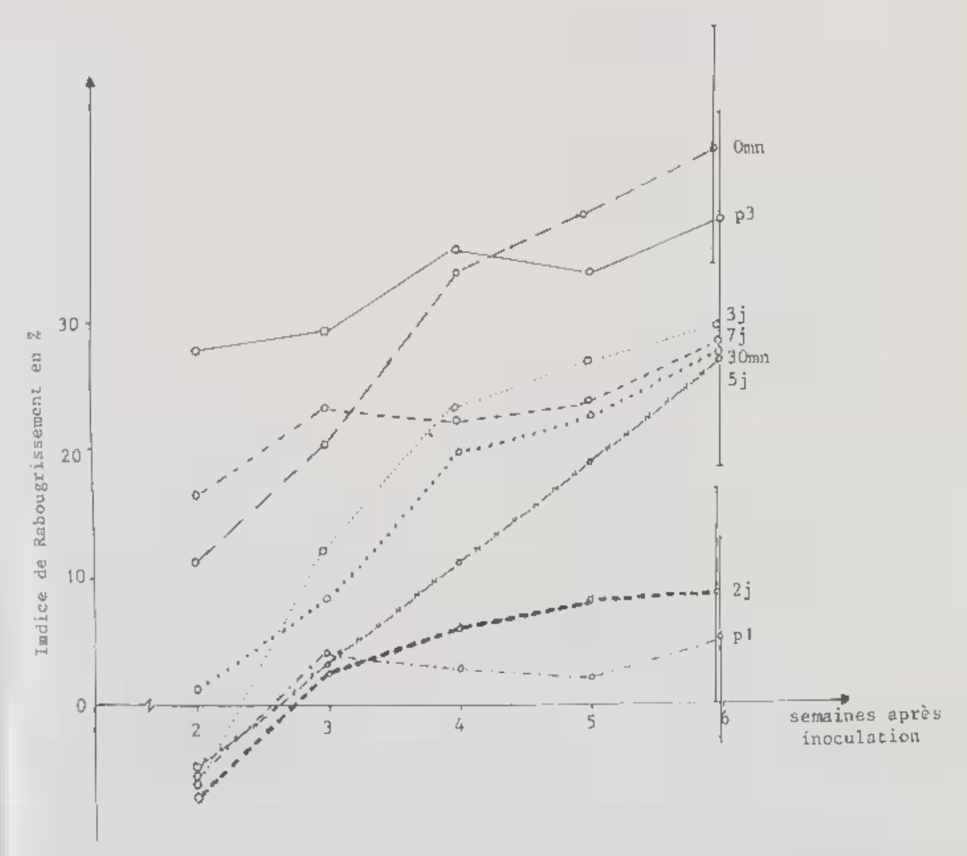


Fig. 1 - Influence de la durée de préinoculation sur l'évolution des indices de rabougrissement (IR) des plantes de tomate préinoculées avec la souche non pathogène de *V. albo-atrum* p1 avant l'inoculation avec la souche pathogène p3. Durée de préinoculation: 0, 30mn, 2, 3, 5 et 7 jours. p1: inoculation avec la souche non pathogène p1, p3: inoculation avec la souche pathogène p3.

Fig. 1 - Evolution of dwarfing index (IR) of tomato plants which had been pre-inoculated with a non pathogen strain of *V. albo-atrum* p1 in relation to the time between pretreatment and challenge inoculation. Preinoculation duration: 0, 30mn, 2, 3, 5 and 7 days. p1: inoculation with a non pathogen strain p1, p3: inoculation with a pathogen strain p3.

L'hôte, préinoculation et inoculation, culture

Les plants de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) variété Marmande, sensible au *V. albo-atrum*, âgés de 3 semaines et arrivés au stade premier bouquet de vraies feuilles sont préinoculés avec une suspension de microconidies (10^6 spores/ml) récoltées par lavage de thalles âgés de 4 jours. Les racines des plants sont trempées pendant 15mn dans l'inoculum préparé à partir de l'une des sou-

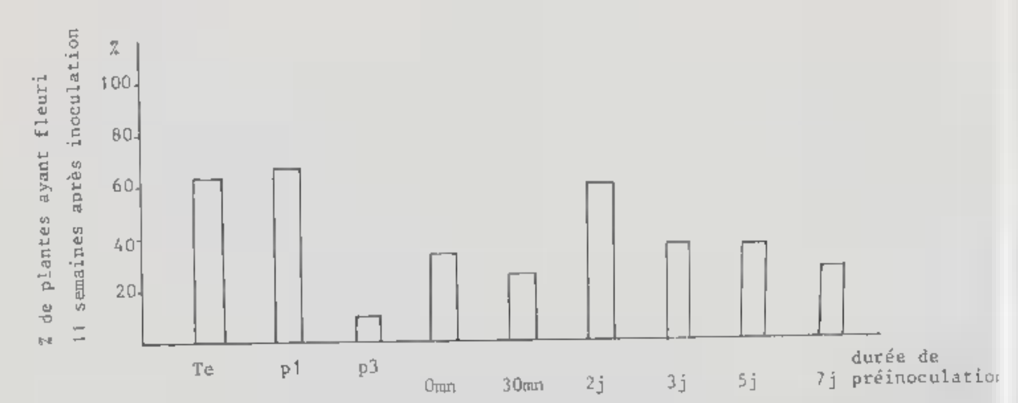


Fig. 2 - Influence de la durée de préinoculation sur la floraison des plantes de tomate prétraitées par la souche non pathogène de *V. albo-atrum* p1 avant l'infection par la souche pathogène p3. Te: témoins, p1: inoculation avec la souche non pathogène p1, p3: inoculation avec la souche p3.

Fig. 2 - Effect of the time between preinoculation with a non pathogen strain of *V. albo-atrum* p1 and challenge inoculation p3 on flowering (% of tomato plants which had been flowered 11 weeks after inoculation). Preinoculation duration: 0, 30mn, 2, 3, 5 and 7 days. Te: control, p1: inoculation with a non pathogen strain p1, p3: inoculation with a pathogen strain p3.

ches non pathogènes. Les racines des plants témoins sont trempées dans de l'eau stérile. Après traitement par l'agent prémunisant, les plantes sont repiquées en pots de sable et reçoivent 3ml du même inoculum. Après un temps variable, les plantes sont délicatement déterrées de leur pot, puis inoculées de la même manière que précédemment avec une suspension de microconidies (10^6 spores ml) issues de l'isolat p3. Des plantes préinoculées témoins sont trempées dans l'eau stérile. Des plantes témoins prétraitées par l'eau stérile seulement sont trempées dans l'inoculum de l'agent pathogène. Toutes les plantes sont repiquées dans leur pot et reçoivent 3ml de l'inoculum agressif. Les tests sont réalisés sur des lots de 21 plantes.

Le substrat de culture est constitué de sable traité à l'HCl, lavé plusieurs fois à l'eau distillée et stérilisé par la chaleur sèche (24h à 180°C) avant d'être imprégné d'une solution nutritive (Lahlou, 1983). Les cultures sont effectuées dans une chambre à une température de 25 ± 1°C, une humidité relative de 60% et une luminosité de 23 000lux sous une photopériode de 12h. Toutes les plantes sont arrosées tous les 2 jours avec la solution nutritive.

Réisolement du champignon

Des coupes minces de tiges sont déposées dans l'alcool 95° pendant 2 minutes, rincées plusieurs fois à l'eau stérile, séchées rapidement sur un papier absorbant stérile, puis déposées à la surface de boîtes de Pétri contenant un milieu

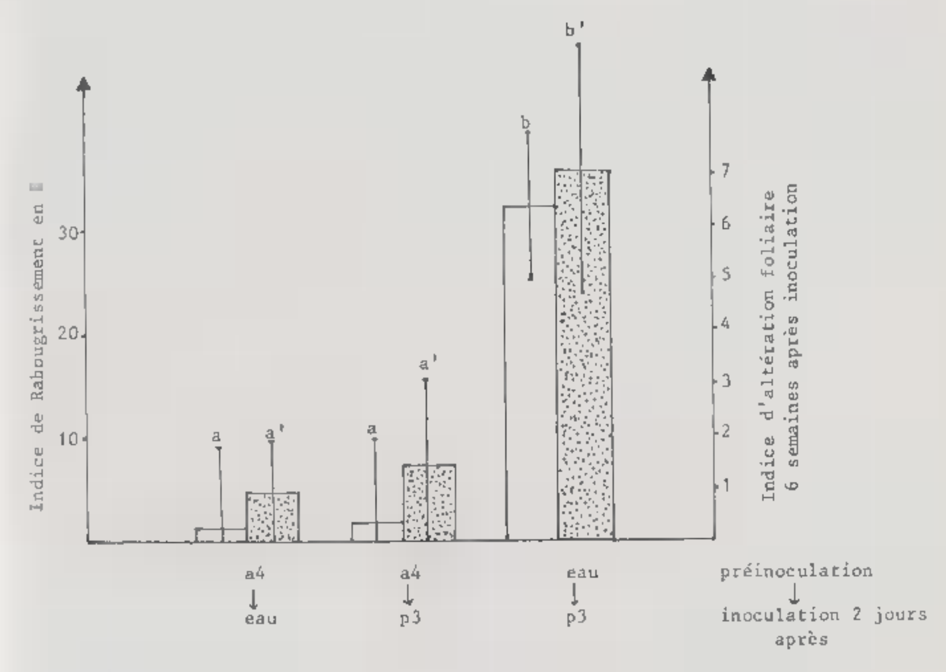


Fig. 3 - Effet de la préinoculation des plantes de tomate avec la souche non pathogène de *V. albo-atrum* a4 (ou eau) sur la croissance (IR) ☐ et les altérations foliaires ▩ des plantes inoculées 2 jours après avec la souche pathogène p3 (ou eau). Deux résultats sont significatifs au seuil 5% s'ils ne sont pas affectés de la même lettre, non significatifs dans le cas contraire.

Fig. 3 - Effect of preinoculation with a non pathogen strain of *V. albo-atrum* a4 (or water) on growth (IR) ☐ and foliar alteration ▩ of tomato plants which had been inoculated 2 days after with a challenger (or water). Letters that are common over the same type of bar are not significantly different, p = 0.05.

P.D.A. additionné d'antibiotiques. En cas de succès, on peut voir au bout d'une semaine un thalle se développer à proximité des fragments de tige.

Analyse minérale

- Teneur des plantes en K^+ et NA^+: les plantes des différents traitements sont arrosées avec la solution nutritive complète. 27 jours après l'inoculation par l'isolat p3, des prélèvements sont effectués (4 répétitions par traitement) en vue d'établir la composition minérale brute en K^+ et Na^+ des organes (racines et tiges).

- Absorption de K^+ et Na^+ par les racines: la préparation des racines en vue de mesurer l'absorption d'ions en 24h a été faite selon la méthode décrite par Guerrier & al. (1985). Les parties aériennes et les racines des plantes sont séchées à l'étuve à 60°C pendant 24 heures. Après broyage au mortier, la poudre

végétale est pesée et placée dans des creusets de quartz puis mise à calciner à 400°C pendant une nuit. Après refroidissement, les cendres sont récupérées dans 5cc d'un mélange d'acide nitrique 10% et d'acide chlorhydrique 10% et portées à ébullition. Les cendres reprises sont transvasées dans une fiole jaugée qu'on ajuste avec de l'eau bidistillée à 50ml. Le dosage est effectué par absorption atomique après passage au spectrophotomètre Perkin Elmer. Les teneurs en Na^+ et K^+ sont exprimées en gramme pour 100g de matière sèche.

Mesure de l'activité nitrate réductase *"in situ"*

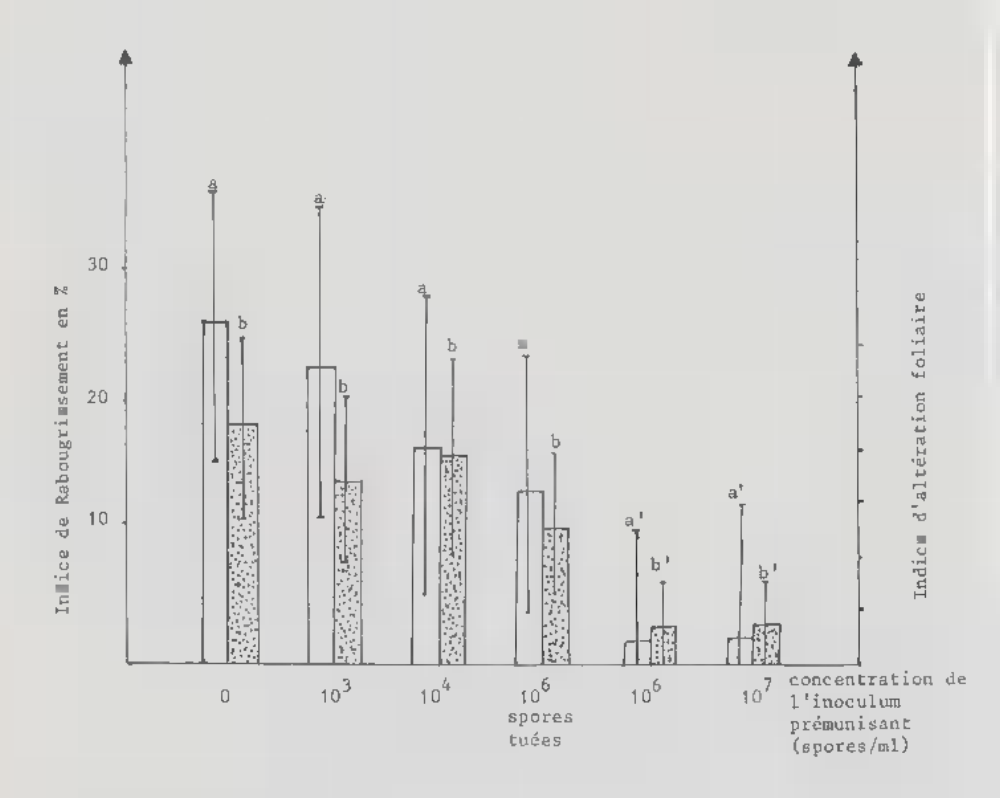


Fig. 4 - Influence de la concentration de l'inoculum prémunisant sur les indices de rabougrissement □ et d'altération foliaire ■ calculés 6 semaines après l'inoculation avec la souche pathogène p3 (10^6 spores/ml) des plantes de tomate différemment prétraitées 2 jours auparavant. Deux résultats sont significatifs au seuil de 5% s'ils ne sont pas affectés de la même lettre, non significatifs dans le cas contraire.

Fig. 4 - Effect of protector inoculum density on dwarfing index □ and foliar alteration ▨ (6 weeks after inoculation) of tomato plants which had been pretreated 2 days before challenge inoculation (10^6 spores/ml). Letters are common over the same type of bar are not significantly different, p = 0.05.

27 jours après l'inoculation par l'isolat p3, les plantes sont déterrées et pesées après excision de leurs racines. Elles sont ensuite incubées dans des vénojects de 140ml en anoxie et à l'obscurité (Robin & al., 1983) en présence de KNO_3 100mM (Gojon & al., 1984). Après un temps d'incubation d'1h, le nitrite accumulé est extrait par l'eau bouillante. Des réactifs de diazotation NNEDD (0.2g/l) et de sulfanilamide (10g/l d'HCl) sont additionnés. On laisse la coloration violette se développer pendant au moins 30mn, puis on mesure la densité optique au spectrophotomètre à 540nm.

Notations des résultats

- Croissance des plantes: la réduction de la taille de l'épicotyle des plantes inoculées par rapport au témoin est estimée par l'indice de rabougrissement IR calculé de la manière suivante:

$$IR = (x_t - x_i / x_t) \times 100,$$

où x_i = accroissement de l'axe aérien du plant inoculé, x_t = accroissement moyen des témoins.

- Indice d'altération foliaire: il exprime l'intensité des altérations foliaires. Une note Ni est attribuée à chaque feuille: 0 = feuille saine, 1 = feuille flétrie sans chlorose, 2 = plages légèrement chlorotiques sur un ou plusieurs folioles, 3 = plages chlorotiques sur toute la surface d'un ou plusieurs folioles ou plages chlorotiques à centre nécrosé, 4 = nécrose totale ou feuille morte. Un indice est établi pour chaque plante:

$$IAF = Ni/4N,$$

où N: nombre total de vraies feuilles.

- Floraison : le nombre de plantes montrant des boutons floraux sur la première inflorescence est noté pour chaque lot de 21 plantes. Il est exprimé en %.

RÉSULTATS

Protection des plantes de tomate par prémunition

- Influence de la durée de préinoculation: nous avons fait varier la durée de la période séparant la préinoculation par l'agent avirulent p1 et l'inoculation par l'isolat p3. Ces durées sont de 0, 30mn, 2, 3, 5 et 7 jours. La croissance des plantes a été suivie durant 6 semaines.

Si l'inoculation par l'isolat p3 suit immédiatement la préinoculation ou si elle a lieu 7 jours après, aucune protection n'est notée (Fig. 1). Pour des durées de préinoculation de 30mn, 3 et 5 jours, l'effet de la protection partielle observée au cours des 4 premières semaines d'observation, diminue progressivement. A la 6ème semaine, les indices de rabougrissement sont aussi prononcés que celui des plantes malades de contrôle. Par contre si l'inoculation par l'isolat p3 a lieu 2 jours après la préinoculation, la protection observée est positive et durable à en juger par les faibles valeurs des indices de rabougrissement et le pourcentage des plantes ayant fleuri en fin d'expérience (Fig. 2).

Tp	réisolement de p1				réisolement de p3				Ti
	plantes inoculées par p1 seul		plantes inoculées par p1 et 2jours après par p3		plantes inoculées par p3 seul		plantes inoculées par p1 et 2jours après par p3		
	base*	apex	base	apex	base	apex	base	apex	
1j	+	-	+	-					
2j	+	-	+	-					
3j	+	-	+	-	+	+	+	-	1j
4j	+	-	+	-	+	+	+	-	2j
6j	+	+	+	+	+	+	+	-	4j
8j	+	+	+	+	+	+	+	-	6j
10j	+	+	+	+	+	+	+	+	8j
12j	+	+	+	+	+	+	+	+	10j

Tabl. 1 - Réisolement des 2 souches de *Verticillium* p1 et p3 dans la base et l'apex des tiges de tomates inoculées. * Niveau du réisolement, + Réisolement positif, - Réisolement négatif, Tp: temps (en jours) après préinoculation par la souche p1, Ti: temps (en jours) après inoculation par la souche p3.

Table 1 - Re-isolation of 2 strains of *Verticillium* p1 and p3 from the base and apex stems of tomato infected plants. * Level of re-isolation, + Positive re-isolation, - Negative re-isolation, Tp: time (days) after preinoculation with p1 strain, Ti: time (days) after inoculation with p3 strain.

Ainsi, le temps optimal de préinoculation est de 2 jours dans les conditions de nos expériences. Ce délai a été retenu pour tester l'effet prémunisant des autres souches hypovirulentes. Avec la souche a4, des résultats positifs ont été obtenus (Fig. 3). Les plantes prémunies ont une croissance semblable à celle des plantes saines. Parfois, nous avons constaté l'apparition tardive de quelques chloroses sur les feuilles de la base et une légère baisse de la croissance des axes aériens, cependant, les indices de rabougrissement et d'altération foliaire restent plus faibles que ceux des plantes malades.

- Influence de la concentration de l'inoculum prémunisant: dans une autre expérience, nous avons fait varier la concentration en conidies de la souche avirulente p1. C'est ainsi que le prétraitement des plantes par des densités d'inoculum inférieures à 10^6 spores/ml n'entraine aucune protection. Les symptômes de la maladie sont aussi sévères que ceux des plantes malades de contrôle (Fig. 4). Pour un inoculum ajusté à 10^6 spores/ml mais dont les spores ont été tuées à la chaleur, les plantes semblent être protégées pendant les 4 premières semaines d'observation, cependant, cette protection s'est révélée transitoire

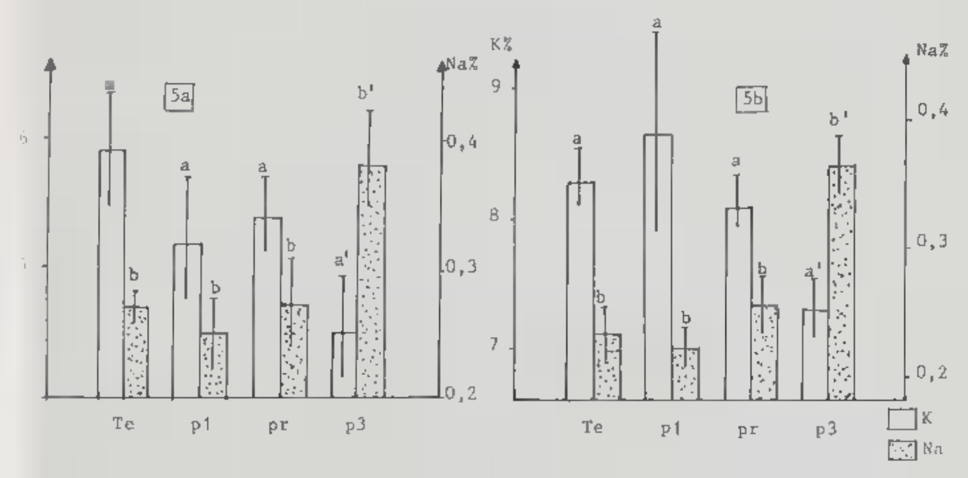


Fig. 5 - Teneur en K^+ et Na^+ (27 jours après l'inoculation) des racines (a) et tiges (b) des plantes de tomate cultivées sur solution nutritive complète et différemment traitées. Te: témoin, p1: inoculation avec la souche non pathogène p1 de *Verticillium*, pr: préinoculation avec la souche p1, 2 jours avant l'inoculation par la souche pathogène p3, p3: inoculation avec la souche pathogène p3. Pour un élément donné, les moyennes non accompagnées de la même lettre diffèrent au seuil statistique 5%.

Fig. 5 - Na^+ and K^+ contents (27 days after inoculation) in roots (a) and stems (b) of tomato plants grown on a complete nutritive medium and differently treated. Te: control, p1: inoculation with a non pathogen strain p1 of *Verticillium*, pr: preinoculation with p1 strain, 2 days before challenge inoculation, p3: challenge inoculation. For each element, means are significantly different (5%) when they are not accompanied by the same letter.

puisqu'à la 6ème semaine, les plantes ont manifesté un rabougrissement de même importance que celui des plantes malades de contrôle. Il en est de même pour les symptômes foliaires notés à la même période.

Il apparaît donc qu'un nombre suffisant de microconidies vivantes de l'agent prémunisant est nécessaire pour induire la résistance des plantes. Ce taux est approximativement le même que celui de l'agent pathogène.

- Progression du parasite dans les plantes infectées: nous nous sommes demandés si la protection conférée à la plante par l'organisme non pathogène pouvait être l'effet d'une compétition avec l'agent pathogène pour l'occupation physique du milieu représenté par la plante. Pour cela des réisolements réguliers dans le temps, des 2 souches de *Verticillium* p1 et p3 ont été effectués au niveau de l'hypocotyle et du dernier entre noeud des plantes, et ceci pendant 12 jours après préinoculation.

Les résultats (Tab. I) montrent que l'isolat p3 (facilement identifiable puisqu'il forme des microsclérotes après 5 jours de mise en culture) pénètre dans les racines, se localise dans l'hypocotyle, puis migre rapidement dans la tige; il a été réisolé de la base et de l'apex des plantes 24h après inoculation.

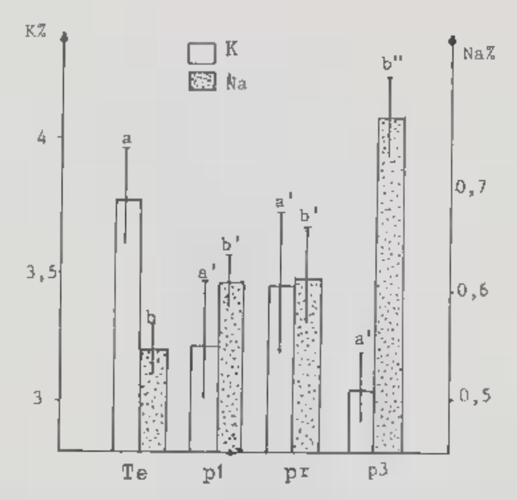


Fig. 6 - Absorption (en 24 h) des ions K^+ et Na^+ par les racines excisées des plantes de tomate cultivées sur milieu $CaSO_4$ et différemment traitées. Te : témoin, p1 : inoculation avec la souche non pathogène p1 de *Verticillium*, pr : préinoculation avec la souche p1, 2 jours avant l'inoculation par la souche pathogène p1, p3 : inoculation avec la souche pathogène p3. Pour un élément donnée, les moyennes non accompagnées de la même lettre différent au seuil statistique 5 %.

Fig. 6 - Daily absorbed amounts of K and Na elements by roots excised from tomato plants grown on a $CaSO_4$ medium and differently inoculated. Te : control, p1 : inoculation with a non pathogen strain p1 of *Verticillium*, pr : preinoculation with p1 strain 2 days before challenge inoculation, p3 : challenge inoculation. For each element, means are significantly different (5 %) when they are not accompagnied by the same letter.

La souche non pathogène p1 pénètre également aussi rapidement que la souche p3 et se maintient dans la racine et la base de l'hypocotyle pendant un certain temps. Elle n'a été réisolée du dernier entre noeud des plantes qu'à partir du 6ème jour après préinoculation.

Dans les plantes prémunies, l'agent non pathogène se trouvant dans la racine n'empêche pas la pénétration de l'agent pathogène. Ce dernier a été réisolé de la base de l'hypocotyle 24h après inoculation, cependant il y reste localisé et n'envahit la totalité de la tige que 8 jours plus tard.

Il apparait donc que les 2 souches de *Verticillium*, pathogène et non pathogène, ne colonisent pas l'ensemble de la plante hôte avec la même vitesse. La présence du parasite non pathogène dans la plante 2 jours avant l'arrivée de l'agent pathogène ne s'oppose pas à l'entrée de l'antagoniste mais semble "retarder" sa progression dans la plante.

Influence de la prémunition sur l'accumulation des ions monovalents chez les plantes infectées

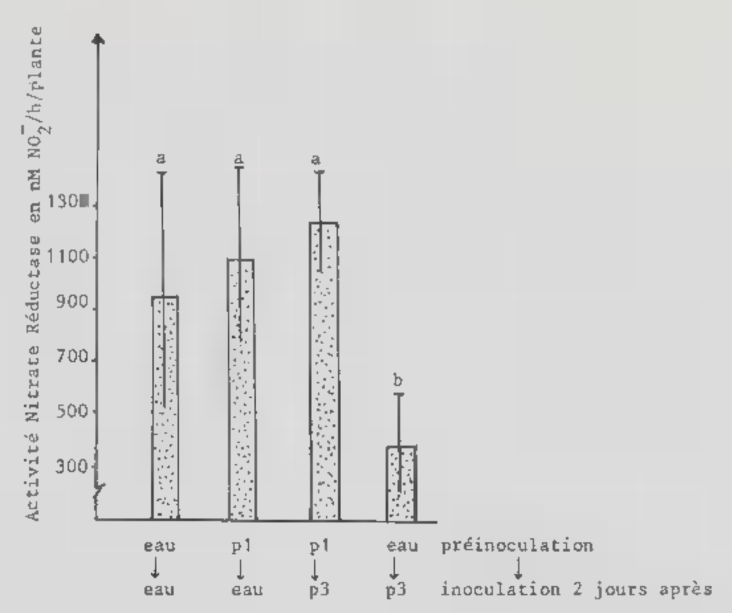


Fig. 7 - Activité nitrate réductase mesurée 27 jours après l'inoculation chez des plantes de tomate préinoculées avec la souche non pathogène p1 de *Verticillium* (ou eau) 2 jours avant l'inoculation avec la souche pathogène p3 (ou eau). Deux résultats sont significatifs au seuil 5% s'ils ne sont pas affectés de la même lettre, non significatifs dans le cas contraire.

Fig. 7 - Nitrate reductase activity (27 days after inoculation) in tomato plants preinoculated with a non pathogen strain of *Verticillium* 2 days before a challenge inoculation (or water). Two results are significant (confidence interval 5%) if they are not affected by any common letter, not significant if they are.

La croissance des plantes protégées par prémunition étant presque semblable à celle des plantes saines, leur nutrition minérale serait-elle affectée par la présence de la souche pathogène de *Verticillium?*

Sur un premier lot de plantes saines, prémunies et malades, nous avons mesuré les teneurs en K^+ et Na^+ des racines et des tiges. Aussi bien dans les tiges que dans les racines, l'inoculation par l'isolat p3 entraîne une baisse dans l'accumulation du K^+, baisse accompagnée par une élévation des teneurs en Na^+ (Fig. 5a-b)). Ces résultats confirment ceux de Guerrier & al. (1985). Chez les plantes prémunies, ces teneurs sont significativement différentes de celles des plantes malades de contrôle. Elles sont statistiquement indistinguibles des teneurs relevées chez les témoins sains ou les témoins inoculés par la souche prémunisante.

Sur un autre lot de plantes arrosées d'une solution de $CaSO_4$, nous avons mesuré l'absorption des ions K^+ et Na^+ en 24h par les racines excisées.

Les résultats (Fig. 6) montrent que l'absorption du K^+ est plus faible chez toutes les plantes inoculées, que ce soit avec une souche pathogène ou non pathogène. A cette baisse correspond une augmentation de l'absorption de Na^+. Toutefois, l'altération observée dans l'absorption de ces deux ions par les racines est moins marquée chez les plantes prémunies.

Influence de la prémunition sur le métabolisme azoté des plantes infectées

L'étude du métabolisme azoté des plantes de tomate a été faite par le biais de l'étude de l'activité de la nitrate réductase (ANR). Cette dernière est représentative du niveau de synthèse des acides aminés et protéines du fait que la nitrate réductase est l'enzyme limitante du processus de réduction des nitrates (Beevers & Hageman, 1969).

Des expériences préliminaires sur l'influence du *Verticillium* sur le métabolisme azoté des plantes de tomate infectées par diverses souches de *Verticillium* ont montré que, dans la capacité de réduire le nitrate, de nettes différences apparaissent entre les plantes inoculées par la souche non pathogène p1 (ANR similaire à celle des témoins) et celles inoculées par la souche pathogène p3 (ANR significativement plus faibles que celles des témoins) (résultats non publiés). Devant cette situation, nous nous sommes demandés si les facultés assimilatrices de l'azote des plantes prémunies seraient épargnées de l'action inhibitrice de l'agent pathogène à l'intérieur des plantes.

Nous avons mesuré l'ANR sur le même lot de plantes ayant servi à l'analyse minérale des différents organes. Des prélèvements ont été faits 27 jours après inoculation. Les résultats consignés sur la Fig. 7 montrent qu'à ce stade la diminution de l'activité assimilatrice de l'azote est assez nette chez les plantes inoculées par l'isolat p3 et manifestant déjà le jour de la manipulation un rabougrissement de 32%. Par contre, les plantes prémunies, de croissance à peu près normale, présentent des ANR semblables à celles des plantes saines.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Ces résultats démontrent qu'il est possible dans les conditions de nos expériences de prémunir les plantes de tomate var. Marmande contre la verticilliose causée par *V. albo-atrum*, en les préinoculant avec des souches non pathogènes du même champignon.

Le succès du phénomène se manifeste durant les 2 premiers mois après la mise en culture, observation faite aussi par Matta & Garibaldi (1977) et, malgré l'apparition tardive de quelques symptômes de la maladie, les plantes prémunies fleurissent en même temps que les plantes saines.

La protection observée dépend du temps de préinoculation: un délai est nécessaire entre la préinoculation et l'inoculation. Dans le cas de la prémunition contre les verticillioses, ce délai dépend du couple hôte - *Verticillium*. Il est de 7 jours pour la prémunition du coton (Schnathorst & Mathre, 1966), 5 à 9 jours pour la protection de la menthe (Mellouk & Horner, 1975). Dans les conditions de nos expériences ce délai est de 2 jours. Ce résultat est à rapprocher de celui de Wymore & Baker (1982). Ces auteurs ont constaté la nécessité du même délai

pour contrôler la fusariose de la tomate. La préinoculation par l'agent non pathogène semble "activer" les mécanismes de défense de la plante (phytoaléxine et autres produits antifongiques...). Leur efficacité semble exiger un délai entre eur mise en route et l'arrivée de l'agent pathogène. Ces mécanismes peuvent être ollicités par des facteurs abiotiques tel le stress dû à la chaleur: l'immersion des acines de tomate dans l'eau chaude à 50°C pendant 60 à 90 secondes 2 jours vant l'inoculation par le *Fusarium oxysporum*, a permis de retarder les symptô-nes de la fusariose (Anchisi & al., 1985).

Une bonne prémunition est liée à une concentration suffisante en nicroconidies de l'agent inducteur. Une corrélation positive semble exister entre densité en microconidies et l'activation des mécanismes de défense de la plan-. Ceci est à rapprocher de l'hypothèse de Mas & Molot (1977); une densité euil des spores de l'agent non pathogène est essentielle pour induire les écanismes de résistance des plantes de melon contre le *F. oxysporum*.

La recherche du champignon dans la tige à différents niveaux des plantes émunies a permis de montrer que la protection n'est pas due à une mpétition physique entre les 2 souches de *Verticillium*, mais qu'elle semble due partie au ralentissement constaté dans la colonisation de la totalité de la tige s plantes prémunies par la souche pathogène. Néanmoins, le champignon thogène demeure présent dans les différentes parties des plantes prémunies isqu'il a été réisolé en fin d'expérience.

Les effets du *Verticillium* sur la nutrition minérale et azotée des plantes de to-ate infectées par la souche pathogène p3 s'expriment d'une part, par une baisse ns l'accumulation du K^+ dans les parties aériennes et les racines et d'une usse dans l'accumulation du Na^+, et d'autre part, par une inhibition de ctivité de la nitrate réductase. Les mécanismes "déclenchés" par la prémunition mblent protéger les plantes de tomate de ces actions néfastes. Ils pourraient, tre autres, agir au niveau de:

- la perméabilité membranaire vis-à-vis du K^+ et Na^+, en la préservant de ction des toxines ou enzymes libérées par la souche pathogène, et assurer à la ante un transport normal de son flux xylémique.

- l'enzyme de l'assimilation de l'azote, éventuellement en empêchant sa sactivation par l'agent pathogène et/ou en lui assurant la fourniture du pouvoir ducteur, sachant que la nitrate réductase de la majorité des plantes supérieures ilise spécifiquement le NADH comme cofacteur (Beevers & Hageman, 1969; hrader & al., 1968).

La résistance totale ou partielle acquise par prémunition dépendrait de la ba-nce métabolique délicate qui existerait entre le parasite produisant des étabolites toxiques et l'hôte mettant en oeuvre ses facteurs de résistance.

REMERCIEMENTS : les auteurs remercient M. le Professeur Chevaugeon pour ses nombreux avis et conseils dans la préparation et la réalisation du texte.

BIBLIOGRAPHIE

ANCHISI M., GENNARI M. and MATTA A., 1985 - Retardation of *Fusarium* symptoms in tomato by pre- and post- inoculation treatment of the roots and aerial part of the host in hot water. *Physiol. Pl. Pathol.* 26: 175-183.

BEEVERS L. and HAGEMAN R.H., 1989 - Nitrate reduction in high plants. *Annual Rev. Pl. Physiol.* 20: 495-522.

DAVID D., 1968 - Partial control of *Fusarium* Wilt in tomato by formae of *F. oxysporum*. *Phytopathology* 58: 121-122.

DOUIRA A. et LAHLOU H., 1989 - Variabilité de la spécificité parasitaire du *Verticillium albo-atrum* Reinke et Bertold, forme à microsclérotes. *Cryptogamie, Mycol.* 10: 19-32.

GOJON A., SOUSSANA J.F., PASSAMA L. et ROBIN P., 1984 - Validité d'une mesure "in situ" pour l'estimation de la réduction de nitrate par des plantes entières de maïs (*Zea mays* L.). *Compt. Rend. Hebd. Séances Acad. Sci.*, Sér. III, 297: 617-620.

GUERRIER G., LAHLOU H. et BOISSON C., 1985 - Modifications de l'accumulation en Na^+, K^+ et Ca^{++} chez les jeunes plantes de tomate infectées par différentes souches de *Verticillium albo-atrum*. *Pl. & Soil* 84: 11-22.

KUC J., SHOCKLEY G. et KEARNEY K., 1975 - Protection of Cucumber against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Physiol. Pl. Pathol.* 7: 195-199.

LAHLOU H., 1983 - Variabilité intraclonale de la morphologie et du pouvoir pathogène du *Verticillium albo-atrum* R. et B., forme à microsclérotes. Thèse de Doctorat d'Etat. Université Med V. Maroc.

MAROIS J.J., 1982 - Biological control of *Verticillium* Wilt of Eggplant in field. *Pl. Disease* 66: 1166-1168.

MAS P.M. et MOLOT P.M., 1977 - Influence de la concentration de l'inoculum en microconidies sur la prémunition du Melon contre *Fusarium oxysporum* f. sp. *melonis*. *Ann. Phytopathol.* 9: 71-75.

MATTA A. and GARIBALDI A., 1977 - Control of *Verticillium* of tomato by preinoculation with avirulent Fungi. *Netherlands J. Pl. Pathol.* 83 (suppl.1): 457-462.

MELLOUK H.A. and HORNER C.E., 1975 - Cross protection in mints by *Verticillium nigrescens* against *V. dahliae*. *Phytopathology* 65: 767-769.

ROBIN P., CONEJERO G., TRANCHANT J.P., PASSAMA L. et SALSAC L., 1983 - Mesure de la réduction du nitrate dans les feuilles intactes. *Physiol. Vég.* 21: 123-128.

SCHNATHORST W.C. and MATHRE D.E., 1966 - Cross protection in cotton with strains of *Verticillium albo-atrum*. *Phytopathology* 56: 1204-1209.

SCHRADER L.E., RITENOUR G.L., EILRICH G.L. and HAGEMAN R.H., 1968 - Some characteristics of NR from higher plants. *Pl. Physiol.* 43: 930-940.

WYMORE L.A. and BAKER R., 1982 - Factors affecting cross protection in control of *Fusarium* Wilt of tomato. *Pl. Disease* 66: 908-910.